



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Nutrición

**Efecto hipolipidémico de la ingesta de *Allium sativum*
(ajo) sometido a pardeamiento sobre la hiperlipidemia
inducida por glutamato monosódico en ratas**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición

AUTOR

Alan Jhon CÁRDENAS SUCA

ASESOR

Rosa Lorenza ORIONDO GATES

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Cárdenas, A. Efecto hipolipidémico de la ingesta de *Allium sativum* (ajo) sometido a pardeamiento sobre la hiperlipidemia inducida por glutamato monosódico en ratas [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Nutrición; 2019.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

Código Orcid del autor (dato opcional):

Código Orcid del asesor o asesores (dato obligatorio):

0000-0003-1511-146X

DNI del autor:

44619118

Grupo de investigación:

Salutaris Cibus e Plantae

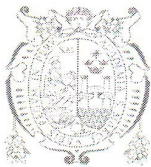
Institución que financia parcial o totalmente la investigación:

Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Debe incluir localidades y coordenadas geográficas:

Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición

Año o rango de años que la investigación abarcó:

2017 - 2019



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Nutrición



"Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad"

ACTA N° 021 DE EXAMEN DE TITULACIÓN
MODALIDAD DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Conforme a lo estipulado en el artículo 45° de la Ley Universitaria 30220, el Jurado de Sustentación nombrado por el Comité de Gestión y la Dirección de la Escuela Profesional de Nutrición, conformado por los siguientes Docentes:

Presidente: Mg. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez

Miembros: Dr. Aníbal Jesús Pacheco Gallupe

Mg. Lázaro Rubén Valdivieso Izquierdo

Asesora: Q.F. Rosa Lorenza Oriondo Gates

Se reunió en la ciudad de Lima, el día jueves 12 de setiembre del 2019, para proceder a evaluar la **Sustentación de Tesis para Optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición** del bachiller:

ALAN JHON CÁRDENAS SUCA

Código de Matricula N° 13010186

Tesis: "Efecto hipolipidémico de la ingesta de *Allium sativum* (ajo) sometido a pardeamiento sobre la hiperlipidemia inducida por glutamato monosódico en ratas"
(Aprobado con RD N° 02730-D-FM-2016)

El mencionado bachiller aprueba el examen de titulación, mediante la modalidad de sustentación de tesis, obteniendo la calificación de:

..... DIECIOCHO (En letras)

Estando de acuerdo con la presente acta, el Jurado de Sustentación firma en señal de conformidad.

.....
Mg. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez
Presidente

.....
Dr. Aníbal Jesús Pacheco Gallupe
Miembro

.....
Mg. Lázaro Rubén Valdivieso Izquierdo
Miembro

.....
Q.F. Rosa Lorenza Oriondo Gates
Asesora



DHDP/desa

Av. Grau 755 - Lima 1 - Apartado Postal 529 - Lima 100 - Perú Central Facultad de Medicina (511) 3283838
Central UNMSM 619-7000 anexo 5401

Portal Web: <http://medicina.unmsm.edu.pe> / epnutricion.medicina@unmsm.edu.pe

AGRADECIMIENTOS

A la Escuela Profesional de Nutrición, por acogerme durante estos 5 años de mi preparación profesional.

Al Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición “Alberto Guzmán Barrón” de la Facultad de Medicina de la UNMSM.

A la universidad por permitirme ser parte de la mejor comunidad universitaria del Perú.

A mi asesora Rosa Oriundo Gates, por sus enseñanzas, apoyo y comprensión en el presente trabajo.

A mis profesores que durante este tiempo transmitieron sus conocimientos.

A mi familia, especialmente a mi padre y hermano por su constante motivación en todos los momentos.

DEDICATORIA

A mi madre, en el cielo y la eternidad,
gracias por todo.

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	10
	2.1 Hipótesis	10
	2.2 Objetivos	10
	2.2.1 Objetivo General	10
	2.2.2 Objetivo Específicos	10
III.	MÉTODOS	11
	3.1 Tipo de estudio.....	11
	3.2 Material biológico	11
	3.3 Tamaño de la muestra.....	11
	3.4 Variables operacionales	11
	3.5 Plan de procedimientos.....	13
	3.5.1 Obtención y preparación del <i>Allium sativum</i>	13
	3.5.2 Acondicionamiento animal.....	13
	3.5.3 Método de inducción a la hiperlipidemia	14
	3.5.4 Método para evaluar el efecto hipolipídico	15
	3.5.4.1 Determinación de triglicéridos	15
	3.5.4.2 Determinación de colesterol	16
	3.5.4.3 Determinación de LDL.....	17
	3.5.4.4 Determinación de HDL	19
	3.6 Análisis de datos	20
	3.7 Consideraciones éticas	21
IV.	RESULTADOS	22
	4.1 Lípidos séricos	22
	4.2 Lipoproteínas séricas	22
	4.3 Cocientes lipoproteicos	23
V.	DISCUSIÓN	24

VI.	CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES	32
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
	ANEXOS.....	44

RESUMEN

Introducción: Las enfermedades cardiovasculares son las principales causas de muerte en todo el mundo y está relacionada directamente con la hiperlipidemia. El tratamiento no farmacológico se dispone como alternativa beneficiosa para la salud.

Objetivo: Analizar el efecto hipolipidémico de la ingesta del *Allium sativum* (ajo) sometido a pardeamiento sobre el perfil lipídico en hiperlipidemia inducida por glutamato monosódico en ratas.

Diseño: Analítico, longitudinal, experimental y prospectivo. **Material biológico:** *Allium sativum* (ajo) variedad morado arequipeño; 24 ratas albinas raza Holtzman, machos adultos de tres meses con $278 \pm 8,5$ g.

Intervenciones: *Allium sativum* fue sometido a temperatura de 70 °C y humedad 85% por 15 días, para su pardeamiento. Las ratas se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos (n=6): Grupo I (NaCl 0,9% a 10 mL/kg), Grupo II (8 mg/g de GMS) y grupos III y IV (8 mg/g de GMS más ingesta de ajo negro a dosis de 50 mg/kg y 200 mg/kg peso respectivamente). Después de 30 días del procedimiento, se realizó ayuno por 12 horas. Posteriormente las ratas fueron anestesiadas y se extrajo la sangre por punción cardiaca para realizar la medición de los niveles de colesterol total, triglicéridos, HDL y LDL. **Resultados:** Se halló disminución significativa de colesterol total ($p<0,01$), LDL y LDL/HDL ($p<0,05$); sin embargo, no presentó disminución significativa en triglicéridos CT/HDL y Tg/HDL. Los niveles de HDL disminuyeron. **Conclusiones:** El *Allium sativum* sometido a pardeamiento (ajo negro) exhibe efecto hipolipidémico en circunstancias experimentales.

Palabras clave: *Allium sativum*, ajo negro, hipolipidémico, glutamato monosódico, hiperlipidemia.

ABSTRACT

Introduction: Cardiovascular diseases are the leading causes of death worldwide and are directly related to hyperlipidemia. Non-pharmacological treatment is available as a beneficial alternative to health. **Objective:** To analyze the hypolipidemic effect of the intake of *Allium sativum* (garlic) subjected to browning on the lipid profile in hyperlipidemia induced by monosodium glutamate in rats. **Design:** Analytical, longitudinal, experimental and prospective. **Biological material:** *Allium sativum* (garlic) purple variety from Arequipa; 24 Holtzman albino rats, three-month-old adult males with $278 \pm 8,5$. **Interventions:** *Allium sativum* was subjected to a temperature of 70 °C and humidity 85% for 15 days, for its browning. The rats were randomly divided into four groups (n = 6): Group I (0,9% NaCl at 10 mL / kg), Group II (8 mg / g of MSG) and groups III and IV (8 mg / g of MSG plus ingestion of black garlic at a doses of 50 mg / kg and 200 mg / kg weight respectively). After 30 days of the procedure, fasting was performed for 12 hours. Afterwards the rats were anesthetized and the blood was extracted by cardiac puncture to perform the measurement of total cholesterol, triglycerides, HDL and LDL levels. **Results:** There was a significant decrease in total cholesterol (p <0.01), LDL and LDL / HDL (p <0.05); however, there was no significant reduction in CT / HDL and Tg / HDL triglycerides. HDL levels decreased. **Conclusions:** *Allium sativum* subjected to browning (black garlic) exhibits a hypolipidemic effect in experimental circumstances.

Key words: *Allium sativum*, black garlic, hypolipidemic, monosodium glutamate, hyperlipidemia.

I. INTRODUCCION

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son un conjunto de trastornos del corazón y de los vasos sanguíneos. Estas siguen siendo la causa principal de muerte en todo el mundo; la información de la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que en el 2015 fallecieron 17,7 millones de personas por este motivo, representando el 31% del total de las defunciones consignadas a nivel global. Respecto a estos fallecimientos, 7,4 millones fueron causa de la cardiopatía coronaria, y 6,7 millones de los accidentes cerebrovasculares (ACV). Siendo esta situación muy alarmante si consideramos que más del 75% de los decesos por ECV se producen en países con un ingreso medio a bajo ⁽¹⁾.

El 2014 en Estados Unidos, las muertes por enfermedad cardiovascular, como causa subyacente de mortalidad, representaron el 30.8% (807 775) de muertes. Ese número equivalió a una de cada tres muertes en ese país. En América Latina se calcula que en el 2020 siete de cada diez muertes se deberá a enfermedades no transmisibles y que la cardiopatía coronaria será la principal causa; siendo la hipercolesterolemia (junto con las demás hiperlipemias) la patología causante de mayor prevalencia, debido a su relación directa con las ECV ⁽²⁻³⁾.

En nuestro país, en el 2013, las enfermedades cerebrovasculares conjuntamente con las enfermedades isquémicas del corazón, fueron la segunda causa de defunción en el país con una tasa de 31,8 por cada 100 000 habitantes, solo precedida por las infecciones respiratorias agudas bajas ⁽⁴⁾. Este panorama no varió mucho en el 2015 pues la enfermedad cerebrovascular se mantuvo en la misma posición, mientras que las enfermedades isquémicas ocuparon un cuarto lugar, anteceditas esta vez por la diabetes mellitus ⁽⁵⁾.

El estudio TORNASOL II del 2013, elaborado por la Sociedad Peruana de Cardiología, encontró que entre el año 2006 y el año 2011 la hipercolesterolemia acrecentó del 10% al 13,8%, reflejando estos niveles en las tres regiones del país, siendo mayor este incremento en la costa. También se observa en dicho estudio una prevalencia mayor en mujeres que en varones. En ese mismo estudio los resultados indican también una alta prevalencia de

otros factores de riesgo cardiovasculares del tipo modificable como la hipertensión arterial, diabetes, tabaquismo, obesidad y sedentarismo ⁽⁶⁾.

La mayoría de las ECV se previenen actuando precisamente sobre estos factores de riesgo comportamentales antes mencionados, utilizando estrategias que abarquen a toda la población ⁽¹⁾. Teniendo siempre en cuenta que las ECV están relacionadas directamente con las hiperlipidemias y sus variantes ⁽³⁾.

La hiperlipidemia se manifiesta con niveles elevados de lípidos en suero, tales como el colesterol y las lipoproteínas LDL, con disminución del HDL, además del aumento de los triglicéridos. Estos lípidos son fundamentales para que nuestros cuerpos se desempeñen adecuadamente. Sin embargo, cuando los niveles son muy elevados predisponen a las personas a riesgo de desarrollar una enfermedad cardíaca o un derrame cerebral ⁽⁷⁾.

El inconveniente con los trastornos de los lípidos circulantes radica principalmente en su asociación con la aterosclerosis y, por ende, con las consecuencias isquémicas conocidas, siendo el colesterol LDL el principal causante del proceso aterogénico ⁽⁸⁾.

Los trastornos en los lípidos en sangre son caracterizados –principalmente- por un aumento de los niveles de colesterol (hipercolesterolemia) e incremento de las concentraciones de triglicéridos (hipertrigliceridemia) y son llamados dislipidemias ⁽⁹⁾.

La dislipidemia también provoca un incremento de la inserción de las LDL a la pared arterial, reuniéndose con proteoglicanos de la matriz extracelular. De este modo, su estancia en la pared arterial se incrementa y al estar aislada de antioxidantes plasmáticos, esta partícula se oxida y da inicio a una respuesta inflamatoria local ⁽¹⁰⁾.

Respecto a la hipertrigliceridemia, según Carranza-Madrigal (2017), concluye que los triglicéridos por si mismos no son un factor de riesgo cardiovascular, por tanto la hipertrigliceridemia aislada no eleva el riesgo de eventos cardiovasculares. Pero su aumento en asociación con otras alteraciones de las lipoproteínas es indicador de la disminución de HDL, variaciones en su fenotipo y función e incremento en la cantidad de LDL con cambios en sus subtipos

hacia los más aterogénicos, incluso en ausencia de valores elevados de colesterol LDL ⁽¹¹⁾.

Se conoce la relación del aumento del nivel de lípidos y la formación de arteriosclerosis, siendo esta última la que predispone el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares. En el avance de la arteriosclerosis intervienen diversos factores, que desarrollan propensión a infartos de miocardio, accidentes cerebrovasculares u otras complicaciones, siendo una de las causas principales de riesgo la hipercolesterolemia ⁽¹²⁾.

La hipercolesterolemia se define como la elevación de los niveles plasmáticos de colesterol, más del límite alto comprendida entre 200-239 mg/dL. La mayoría de las veces el aumento del colesterol está ligado a las proteínas de baja densidad (LDL), siendo este un crucial factor del riesgo cardiovascular, con rol clave en el principio y avance de la aterosclerosis ⁽¹³⁾.

La aterosclerosis es una enfermedad que deteriora progresivamente los vasos sanguíneos, iniciando con la acumulación de lipoproteínas y células inflamatorias en la pared arterial que generan *fatty streaks* (estrías compuestas por macrófagos repletos de lípidos y células espumosas), estas a su vez se desarrollan en complejas placas (núcleo necrótico lipídico y capa exterior fibrosa). La rotura o fragmentado de estas placas libera trombos en la circulación y con ello, la aparición de los síntomas clínicos de las enfermedades cardiovasculares (ECV) ⁽¹³⁾.

Frente a ello, el manejo de la hiperlipidemia resulta relevante en la enfermedad cardiovascular tanto en la prevención primaria como secundaria. Lograr disminuir altos niveles de LDL retarda el avance de la placa de ateroma, inclusive reduce su tamaño, viéndose acompañando de una disminución en la morbimortalidad cardiovascular ⁽¹⁴⁾.

Es fundamental establecer una planificación para contrarrestar este problema y definir el objetivo terapéutico en base al tratamiento farmacológico ⁽¹⁵⁾. Aunque el tratamiento farmacológico hipolipemiante es el eje fundamental del manejo de los pacientes con hiperlipemias, la alimentación puede también jugar un importante papel ⁽¹⁶⁾.

Referente a las modificaciones en el estilo de vida, el ATP III considera que se debe establecer una alimentación con disminución del consumo de grasas saturadas y colesterol. Además recomienda incorporar ejercicio físico moderado equivalente al consumo de 200 kcal/día. Sin embargo, al no obtener el nivel requerido de lípidos séricos, puede agregarse productos no farmacológicos dentro de la prevención primaria como esteroides, estanoles y fibras. Estas conciernen a una variedad de productos que son llamados como alimentos funcionales ⁽¹⁷⁾.

Si bien el empleo de fármacos y productos químicos pueden resultar efectivos en el tratamiento de las hiperlipidemias, también se generan -en algunos casos- efectos colaterales indeseables, siendo los más frecuentes dispepsia, náuseas, dolor gastrointestinal, la cefalea, trastornos del sueño y las mialgias ⁽¹⁵⁻¹⁶⁾. La población afectada por este problema de salud puede optar también por terapias no farmacológicas como el manejo de la dieta. Es este último punto donde los alimentos funcionales ejercen un rol preventivo ya que reducen los factores de riesgo que ocasionan la aparición de enfermedades ⁽¹⁸⁾.

El Consejo de Alimentación y Nutrición de la Academia de Ciencias de los Estados Unidos ha definido a los alimentos funcionales (AF) como “alimentos modificados o que contienen ingredientes que demuestren acciones que incrementan el bienestar del individuo o que disminuyen los riesgos de enfermedades, más allá de la función tradicional de los ingredientes que contienen” ⁽¹⁹⁾.

Es de destacar que la literatura científica sustenta que además de los nutrientes tradicionales y la relevancia del balance de energía, existen una serie de constituyentes dentro de los alimentos que son provechosos para la salud, así como el reconocimiento e importancia de ciertos patrones en la dieta ⁽²⁰⁾.

Por lo tanto, un AF contiene, además de la función nutritiva (referente a lo material y energético) la capacidad de proveer una utilidad extra para el organismo. Claro ejemplo con las verduras y frutas, cuyos polifenoles contrarrestan la oxidación de radicales libres, del mismo modo el omega 3 (EPA y DHA) contenido en los pescados azules, quien se halla asociado con

disminuciones del riesgo por muerte súbita y riesgo de muerte por cardiopatía coronaria en adultos ⁽²⁰⁻²¹⁾

Precisamente, dentro de alimentos funcionales, existen estudios de la actividad hipocolesterolémica del *Allium sativum* (ajo) por su contenido de compuestos azufrados y fenólicos ⁽²²⁾. Usado como alimento desde hace siglos, también se le atribuye propiedades terapéuticas como reducir la presión sanguínea y los niveles de colesterol ⁽²³⁾. Sin embargo, el ajo crudo presenta un sabor característico fuerte y picante ⁽²⁴⁾. Otro inconveniente es el olor que emana la persona quien lo consume, debido principalmente a dos sustancias volátiles en su composición como la aliina y alicina ⁽²⁵⁾.

El *Allium sativum* tiene su origen en Asia menor. Perteneciente a las liliáceas, altura de 1,5 m, hojas planas de 8 mm de ancho, flores verdosas, blanquecinas e incluso rosadas, no tan numerosas (a veces ausentes) que destacan por el pedúnculo extenso que termina agrupándolas en múltiples bulbillos ⁽²⁶⁾. El bulbo lo compone un revestimiento blanco de forma ovoide y algo arqueada, rodeados por una túnica membranosa dentro de la cual se encuentran entre 10 a 12 bulbillos (dientes de ajos)⁽²⁷⁾.

Se desarrolla en forma adecuada en ambientes que van de templado a cálido con reducida humedad relativa. En las fases iniciales de su desarrollo precisa temperaturas entre 10 y 14 °C y en la etapa de madurez sus requerimientos varían entre los 18 y 22 °C. Necesita de suelos ricos en elementos orgánicos, levemente ácidos y con pH entre 5,8 y 6,5. Presenta un período vegetativo (ciclo de vida) bianual ⁽²⁸⁾.

Pacheco (2003) hace referencia que el ajo arequipeño es una variedad muy cultivada en nuestro país, de color morado, con un periodo vegetativo de siete meses aproximadamente, buena conservación y aceptación en el mercado nacional y extranjero por su gran calidad; además de un gran rendimiento productivo ⁽²⁹⁾.

Allium sativum, comúnmente conocido como ajo, se ha utilizado en todo el mundo no sólo como alimento, especia o suplemento, sino también como medicina tradicional desde la antigüedad ⁽³⁰⁾. Dentro de las propiedades del ajo

se incluyen la antibiótica, antibacteriana, antiviral, antifúngica, antihipertensiva, hipoglucemiante, antitrombótica, antioxidante y antiplaquetaria ⁽³¹⁻³³⁾.

Aunque el ajo ha sido ampliamente utilizado como uno de los condimentos para uso alimentario y medicinal, en América, el consumo de ajo crudo es limitado debido a su desagradable olor y sabor. En base a ello, la aplicación de un proceso térmico puede ser capaz de mejorar las propiedades sensoriales de los alimentos. En caso del ajo, sus características propiedades organolépticas pueden ser eliminadas por tratamiento térmico y de esta manera, la palatabilidad del ajo podría mejorarse ^(30; 34). Por ello se han buscado nuevas alternativas que permitan su ingesta sin estos inconvenientes como la forma de “ajo negro”.

El ajo negro como tal, se produce generalmente por calentamiento del ajo crudo a alta temperatura (70 °C) con humedad controlada durante aproximadamente 30 días ⁽³⁵⁾. En esta transformación, gran parte del olor de ajo fresco se elimina y se forman compuestos que contienen azufre, lo que otorga beneficios para la salud. A través del proceso de calentamiento, los compuestos desagradables en el ajo crudo se convierten en compuestos insípidos. Como resultado, el ajo negro en general tiene un sabor agridulce en lugar del ofensivo olor y gusto ⁽³⁶⁾.

Cuando el ajo se calienta, sus aspectos bioactivos cambian. Durante este procesamiento, la aliina y los compuestos inestables y olorosos de ajo crudo se convierten en compuestos estables e inodoros como la S-alilcisteína (SAC), S-alil mercaptocisteína o descompuestos en complejos organosulfurados tales como sulfuro de dialilo (DAS), disulfuro de dialilo (DADS), trisulfuro de dialilo (DATS), vinil ditiinas y ajoenos ⁽³⁷⁾. También se ha reportado que el ajo sometido a este tratamiento contiene actividad antioxidante y un contenido de polifenoles totales más alto que el ajo fresco ⁽³⁸⁾. Se conoce que la ingesta de polifenoles se ha asociado con una mejora del exceso de peso y del perfil lipídico en personas que manifestaron dislipidemia ⁽³⁹⁾.

Dentro de los beneficios del ajo negro podemos citar su ayuda en el ajuste de la presión arterial, azúcar en la sangre, lípidos en la sangre y los niveles de colesterol; el inhibir la oxidación del colesterol, la generación de oxígeno activo y la prevención de la esclerosis arterial por el contenido de polifenoles que es

significativamente mayor y finalmente, que no necesita aditivo para su elaboración ya que solo se requiere de su calentamiento por determinados días, siendo una receta sencilla para disponer de una mejor salud ⁽⁴⁰⁾.

Existe evidencia del efecto de estos compuestos en trabajos relacionados, tal y como se reporta en los próximos trabajos:

Thomson M, *et al.* (2007) estudiaron por siete semanas los efectos hipoglucémicos, hipocolesterolémicos e hipotrigliceridémicos del extracto de ajo crudo en ratas inducidas a diabetes. Los resultados demostraron una reducción significativa de los niveles séricos de glucosa, colesterol y triglicéridos. Comparado con las ratas diabéticas controladas, las ratas tratadas con ajo tenían un 57% menos de glucosa en suero, un 40% menos de colesterol sérico y un 35% menos triglicéridos ⁽⁴¹⁾.

Seo *et al.* (2009) determinaron los efectos del ajo y el ajo negro sobre el control de la glucemia y perfil lipídico en ratas de diabetes tipo 2. Se encontró que la ingesta de ajo disminuye significativamente el colesterol total, mientras que el ajo negro envejecido redujo significativamente el colesterol sérico total y triglicéridos con aumento de los niveles de colesterol HDL ⁽⁴²⁾.

Lee *et al.* (2011) determinaron el efecto del extracto de ajo negro en ratas con dieta hipercalórica. Luego de seis semanas se observó que el colesterol total y triglicéridos en suero fueron significativamente inferiores en los grupos con las dosis administradas. Además, el HDL fue significativamente más alto y el LDL fue significativamente menor en los grupos alimentados con la dieta de ajo negro que en el grupo normal. Los niveles de lípidos hepáticos, incluyendo el colesterol total, disminuyeron en el grupo alimentado con la dieta de ajo negro que en el grupo placebo ⁽⁴³⁾.

Kim *et al.* (2011) evaluaron la eficacia del extracto de ajo negro en la obesidad y la hiperlipidemia en ratas con consumo de una dieta alta en grasas. Se encontró una mejora en el perfil lipídico con disminución de triglicéridos en suero y colesterol total después de 5 semanas de tratamiento ⁽⁴⁴⁾.

Chen *et al.* (2014) determinaron el efecto del extracto metanólico de ajo negro (MEBG) en un modelo animal. Encontrándose una disminución el peso corporal final; las masas relativas de los tejidos del hígado y la grasa; los niveles de

triacilglicéridos en suero; estrés oxidativo y el aumento de contenidos de lípidos fecales en ratas HFD ⁽⁴⁵⁾.

Wha A, Ying T, Kyoung W (2015) determinaron los efectos del ajo negro en los perfiles de lípidos y la expresión de genes relacionados en ratas alimentadas con una dieta alta en grasas. Después de 5 semanas y luego de los análisis se determinó que el consumo de extracto de ajo negro reduce la expresión del ARNm SREBP-1C, que causa una disminución en el metabolismo de los lípidos y el colesterol. Como resultado, se redujeron los niveles sanguíneos de lípidos totales, TG y colesterol ⁽⁴⁶⁾.

Respecto a su elaboración; Calderón (2015) realizó un estudio en Ecuador donde evaluó el proceso de obtención de ajo negro a partir de tres variedades de ajo, estableciendo las variedades con mayores propiedades nutricionales entre ajo hembra (varios dientes), macho (un solo diente) y peruano determinando los tiempos adecuados (30 y 40 días), aplicando diferentes temperaturas (60°C – 70°C) para obtener la mayor concentración de selenio en el ajo negro ⁽⁴⁷⁾.

Químicamente, el proceso de calentamiento conduce a la reacción de Maillard, creando el color marrón oscuro típico y la producción de compuestos antioxidantes ⁽⁴⁸⁾. Diversos estudios han propuesto formas de elaboración de ajo negro en base a la temperatura, humedad y tiempo. La mayoría de estos trabajos concuerda que a temperaturas entre 70 a 75 °C con humedad relativa de 85 a 90 %, se logra una mayor concentración de compuestos bioactivos ^(35; 49-50).

El ajo bajo la forma de pardeamiento puede lograr un mejor gusto al ser consumido, ya que al ser sometido a tratamiento térmico su palatabilidad mejora. Por consiguiente, gran parte del olor característico del ajo se elimina y se evitan efectos adversos, como trastornos gastrointestinales y anemia hemolítica ⁽⁵¹⁻⁵²⁾.

Por todo lo expuesto anteriormente, el desarrollo de esta investigación beneficia a aquellas personas que presentan problemas cardiovasculares relacionados con el colesterol elevado y cardiopatías coronarias. Actualmente se observa que existe la búsqueda de alternativas naturales que puedan

ayudar a prevenir y reducir esta problemática; siendo los alimentos funcionales una solución optativa y útil. Del mismo modo, la investigación puede dar lugar a promover un mayor consumo de este producto (bajo la forma de pardeamiento) por parte de la población. De este modo se contribuiría a la reducción de las enfermedades cardiovasculares con un alimento de fácil procesamiento.

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

La ingesta del *Allium sativum* (ajo) sometido a pardeamiento ejerce efecto hipolipidémico en ratas con hiperlipidemia inducida por glutamato monosódico.

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivo general:

- Analizar el efecto hipolipidémico de la ingesta del *Allium sativum* (ajo) sometido a pardeamiento sobre el perfil lipídico en hiperlipidemia inducida por glutamato monosódico en ratas.

2.2.2 Objetivos específicos:

- Determinar el efecto hipolipidémico de la ingesta del *Allium sativum* (ajo) sobre los lípidos séricos en hiperlipemia inducida por glutamato monosódico en ratas.
- Determinar el efecto hipolipidémico del *Allium sativum* (ajo) sobre las lipoproteínas séricas en hiperlipemia inducida por glutamato monosódico en ratas.

III. MÉTODOS

3.1 Tipo de estudio

Según Argimón: Analítico, longitudinal, experimental y prospectivo ⁽⁵³⁾.

3.2 Material biológico

- Rata albina (*Rattus norvegicus*), raza Holtzman, machos adultos de tres meses de edad y peso 278 ± 8.5 gramos. Adquiridas en el bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

- *Allium sativum* (ajo) variedad morado arequipeño.

3.3 Tamaño de la muestra

Según criterio de experto; se empleó 24 ratas.

3.4 Variables operacionales

Efecto hipolipidémico:

“Disminución de las concentraciones de lípidos y lipoproteínas séricos” ⁽⁵⁴⁾.

VARIABLE	TIPO	INDICADORES: DEFINICIÓN OPERACIONAL	PUNTOS DE CORTE	ESCALA DE MEDICIÓN
Administración del <i>Allium sativum</i> (ajo) sometido a pardeamiento.	Independiente	Administración de <i>Allium sativum</i> (ajo) sometido a pardeamiento suspendido en agua. (mg/kg del peso de roedor)	- 50 mg/kg del peso de roedor / día. - 200 mg/kg del peso de roedor / día	Numérica
Efecto hipolipidémico	Dependiente	Concentración de lípidos séricos: - Colesterol total (mg/dL) - Triglicéridos (mg/dL) Concentración de lipoproteínas séricas: - HDL (mg/dL) - LDL (mg/dL)	Comparado con el grupo control II	Numérica

3.5 Plan de procedimientos

3.5.1 Obtención y preparación del *Allium sativum*

Los bulbos de *Allium sativum* (ajo) variedad morado arequipeño fueron adquiridos en el Gran Mercado Mayorista de Lima. Se escogieron los de mejor calidad. Los bulbos fueron sometidos a temperatura de 70 °C y humedad 85 % por 15 días para su pardeamiento. Una vez concluido este proceso se procedió a la exclusión de la catáfila protectora para obtención de los “dientes”. Posteriormente se congeló con nitrógeno líquido e inmediatamente fue llevado a liofilizado en el laboratorio del Instituto de Investigaciones de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM. Alrededor de 60 horas después pudo solidificarse y realizarse la molienda con posterior tamizaje, obteniendo el pulverizado que se empleó en nuestro trabajo.

3.5.2 Acondicionamiento animal

Los primeros cinco días, cada roedor se mantuvo con agua *ad libitum* y alimento balanceado con peso aproximado de 30 gramos. Este alimento fue adquirido de la Facultad de Zootecnia de la UNALM. La temperatura del ambiente fue de 24°C y con exposición a ciclos de 12 horas luz/12 horas oscuridad.

3.5.3 Método de inducción a la hiperlipidemia

Se empleó la técnica de Singh (2011) que se fundamenta en suministrar glutamato monosódico (GMS) a 8 mg/g por peso durante siete días consecutivos. Las cantidades correspondientes fueron suministradas orogástricamente mediante una cánula de acero inoxidable. ⁽⁵⁵⁾

La distribución de las ratas se realizó de forma aleatoria, en cuatro grupos (n=6), estableciéndose los siguientes procedimientos por 30 días (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución y procedimiento de los grupos de estudios

	Tratamiento
Grupo I	NaCl 0,9% a 10 mL/kg por peso de roedor
Grupo II	GMS 8 mg/g por peso de roedor + NaCl 0,9% a 10 mL/kg*
Grupo III	GMS 8 mg/g por peso de roedor + <i>Allium sativum</i> sometido a pardeamiento 50 mg/kg por peso de roedor *
Grupo IV	GMS 8 mg/g por peso de roedor + <i>Allium sativum</i> sometido a pardeamiento 200 mg/kg por peso de roedor *

*Después de 1 hora de la administración del GMS.

Finalizado el periodo del tratamiento experimental, las ratas permanecieron solo con consumo de agua *ad libitum* por 12 horas, luego se procedió a la anestesia con vapor de éter para la extracción de sangre por medio de punción cardiaca. La muestra fue llevada inmediatamente a centrifugado por 10 minutos a velocidad de 3500 rpm. El suero sanguíneo obtenido se usó para cuantificar lípidos y lipoproteínas séricas.

3.5.4 Método para evaluar el efecto hipolipidémico

3.5.4.1 Determinación de triglicéridos ⁽⁵⁶⁾

Fundamento:

Los triglicéridos presentes en las lipoproteínas son hidrolizados por la lipoproteinlipasa liberando ácidos grasos y glicerol. Este último es fosforilado por la glicerol quinasa, gastando un ATP y produciendo glicerol - 1 – fosfato; este por acción de la glicerol fosfato oxidasa y en presencia de oxígeno genera la formación de dihidroxiacetona fosfato y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno reacciona con la 4-aminofenazona (4-AF) y el clorofenol, formando una quinona roja cuya longitud de onda máxima es de 505 nm; esta última reacción es catalizada por la peroxidasa.

Reactivos

A: Lipoproteinlipasa (≥ 800 U/L), glicerol quinasa (≥ 500 U/L), glicerol fosfato oxidasa (≥ 1500 U/L), peroxidasa (≥ 900 U/L), adenosin trifosfato (2 mmol/L) y 4-aminofenazona (0,4 mmol/L).

B: Solución de buffer Good (50 mmol/L) que contiene clorofenol y pH de 7,5.

S. Estándar: Solución de glicerol 2,26 mmol/L (~ 200 g/L de trioleína).

Procedimiento

Se añadió 20 mL de reactivo B a un recipiente de reactivo A, logrando obtener una disolución y homogenización íntegras. Esta mezcla es conocida como Reactivo de trabajo.

Una muestra sérica de 10 μ L le fue agregada 1 mL de Reactivo de trabajo, se mezcló e incubó a una temperatura y tiempo de reacción de 37°C y cinco minutos respectivamente. Blanco reactivo y estándar tuvieron el mismo protocolo.

Terminado este lapso, se enfrió y fue leído en un espectrofotómetro a 505 nm llevando el artefacto a cero con agua destilada.

Para el cálculo final de los resultados se usó la siguiente fórmula resumida:

$$Tg \text{ (g/L)} = D \cdot \text{factor} \quad ; \quad \text{factor} = \frac{2}{S} \text{ g/L}$$

D: Lectura desconocida

Tg: Triglicéridos

S: Estándar

TRANSFORMACIÓN DE UNIDADES:

$$Tg \text{ (g/L)} = 0,01 \times Tg \text{ (mg/dL)}$$

3.5.4.2 Determinación de colesterol ⁽⁵⁶⁾

Fundamento:

Los ésteres de colesterol de la muestra sérica son hidrolizados por la colesterol esterasa, liberando ácidos grasos y colesterol. Este último, conjuntamente con la colesterol oxidasa y el oxígeno logra generar colesterol-3-ona y peróxido de hidrogeno. El peróxido de hidrogeno reacciona con la 4-aminofenazona (4-AF) más un aceptor. Esta reacción final es catalizada por la peroxidasa; lo cual genera una quinona roja, cuya longitud de onda máxima es de 505 nm.

Reactivos

A: Solución de colesterol esterasa (≥ 100 U/L); colesterol oxidasa (≥ 100 U/L); peroxidasa (≥ 1000 U/L); 4-aminofenazona (0,2 mmol/L) y buffer Good, incluyendo en su composición fenol (15 mmol/L) y colato de sodio (0,2 mmol/L).

S. Estándar: Solución de colesterol de 200 g/L.

Procedimiento

Una muestra sérica de 10 μ L le fue agregada 1 mL de reactivo A, se mezcló e incubó a una temperatura y tiempo de reacción de 37°C y cinco minutos respectivamente. Blanco reactivo y estándar tuvieron el mismo protocolo.

Terminado este lapso, se retiró la muestra para ser leída en un espectrofotómetro a 505 nm llevando el artefacto a cero con el blanco.

Para el cálculo final de los resultados se usó la siguiente fórmula resumida:

$$\text{Colesterol (g/L)} = D \cdot \text{factor} \quad ; \quad \text{factor} = \frac{2}{S} \text{ g/L}$$

D: Lectura desconocida

S: Estándar

TRANSFORMACIÓN DE UNIDADES:

$$\text{Colesterol (g/L)} = 0,01 \times \text{Colesterol (mg/dL)}$$

3.5.4.3 Determinación de LDL ⁽⁵⁶⁾

Fundamento

La disociación de las LDL o β -lipoproteínas séricas, se logra precipitándolas de modo selectivo por medio del añadido de polímeros con peso molecular elevado (sulfato de polivinilo diluido en polietilenglicol). Concluido el centrifugado, el sobrenadante queda con el resto de lipoproteínas (HDL y VLDL); el colesterol unido a ellas se cuantifica aplicando el método enzimático Colesterol oxidasa/Peroxidasa con colorimetría basado en la reacción de Trinder (Fenol/4-Aminofenazona). La resta obtenida del colesterol total y el cuantificado dentro del sobrenadante, nos da el colesterol ligado a las LDL.

Reactivos

A. (precipitante): Solución de 1 g/L de sulfato de polivinilo diluido en polietilenglicol al 25% y pH 6,7.

Procedimiento

En un tubo de Kahn se homogenizó (agitando y sin invertir) 200 μ L de suero y 100 μ L del reactivo A por un lapso de 20 segundos, seguidamente se ubicó el homogenizado en baño maría por 15 minutos. Terminado el tiempo, este

homogenizado fue transferido a una centrifugadora (15 minutos/3000 r.p.m.) lo cual generó un sobrenadante que fue separado inmediatamente como muestra para el ensayo colorimétrico.

Una cantidad de 100 µL del sobrenadante le fue agregado 2 mL del reactivo de trabajo. Se combinó, luego se dejó a una temperatura y tiempo de reacción de 37°C y cinco minutos respectivamente. Finalmente fue retirado y se dejó enfriar para ser leído en un espectrofotómetro a 505 nm, llevando el aparato a cero de absorbancia con el blanco. El blanco y el estándar tuvieron el mismo protocolo.

Para el cálculo final de los resultados se usó la siguiente fórmula resumida:

$$\text{LDL (g/L)} = \text{CT} - (\text{D} \cdot \text{factor}) \quad ; \quad \text{factor} = 0,624 / \text{S}$$

D: Lectura desconocida

CT: Colesterol total

S: Estándar

El número 0,624 aparece de:

$$0,624 = 2 \text{ (g/L)} \times \frac{\text{VF}_E}{\text{V}_M} \times \frac{\text{VR}_E}{\text{VR}_S} \times \frac{\text{V}_S}{\text{V}_E}$$

Donde:

VF_E = Volumen definitivo del extracto = 0,3 mL

V_M = Volumen de la muestra procesada = 0,2 mL (200 µL)

VR_E = Volumen de la reacción con el extracto = 2,1 mL

VR_S = Volumen de la reacción con el Estándar = 2,02 mL

V_S = Volumen del Estándar en la reacción = 0,02 mL (20 µL)

V_E = Volumen del extracto en la reacción = 0,1 mL (100 µL)

3.5.4.4 Determinación de HDL ⁽⁵⁶⁾

Fundamento

Las HDL se disocian precipitando de manera selectiva las lipoproteínas de baja y muy baja densidad (LDL y VLDL) por medio del añadido de sulfato de dextrán (PM 50 000) ante iones Mg^{+2} .

La centrifugación separa el sobrenadante, en él permanecen las HDL y se efectúa la cuantificación del colesterol unido a ellas, utilizando el método enzimático Colesterol oxidasa/Peroxidasa con colorimetría basado en la reacción de Trinder (Fenol / 4-AF).

Reactivos

A: Solución de sulfato de dextrán (PM 50 000) 0,032 mmol/L.

B: Solución de $MgCl_2$ 1,5 mol/L.

Procedimiento

Para la preparación del reactivo precipitante (RP) se midió 2,5 mL de cada reactivo suministrado (A y B) el cual fue mezclado por inversión.

Una cantidad de 0,5 mL de suero le fue agregada 50 μ L de RP. Esta mezcla fue vertida en un tubo de Kahn. Se homogenizó (agitando y sin invertir) por 20 segundos y dejado durante 30 minutos a refrigeración ($2^{\circ}C$ a $10^{\circ}C$). Posteriormente fue centrifugado por un lapso de 15 minutos a 3000 r.p.m. lo cual generó un sobrenadante cristalino que fue usado como muestra.

Una cantidad de 100 μ L del sobrenadante le fue agregado 2 mL del reactivo de trabajo. Se combinó, luego se dejó a una temperatura y tiempo de reacción de $37^{\circ}C$ y cinco minutos respectivamente. Concluido, fue separado para su enfriamiento. Luego, leída por espectrofotómetro a 505 nm, llevando el aparato a cero de absorbancia con el blanco. Estándar y el blanco tuvieron el mismo protocolo.

Para el cálculo final de los resultados se usó la siguiente fórmula resumida:

$$\text{HDL Colesterol (g/L)} = D \cdot f ; f = 0,457 / S$$

D: Lectura desconocida

S: Estándar

El número 0,457 aparece de:

$$0,457 = 2 \text{ (g/L)} \times \frac{V_{FE}}{V_M} \times \frac{V_{RE}}{V_{RS}} \times \frac{V_S}{V_E}$$

Donde:

V_{FE} = Volumen definitivo del extracto = 0,55 mL

V_M = Volumen de la muestra procesada = 0,5 mL

V_{RE} = Volumen de la reacción con el extracto = 2,1 mL

V_{RS} = Volumen de la reacción con el Estándar = 2,02 mL

V_S = Volumen del Estándar en la reacción = 0,02 mL

V_E = Volumen del extracto en la reacción = 0,1 mL

3.6 Análisis de datos

Después de la conclusión del proyecto experimental, las cifras fueron recogidas e ingresadas a una hoja de cálculo en MS-Excel 2010 para ser ordenados y analizados; posteriormente fueron procesados mediante el programa estadístico SPSS 20.

Primero se realizó un análisis descriptivo expresado en promedios y desviación estándar. Luego se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, para seleccionar las pruebas de hipótesis estadísticas adecuadas.

Los indicadores de triglicéridos, HDL, Colesterol total/HDL y Triglicérido/HDL tuvieron una distribución normal, por tanto se aplicó la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA). Para los indicadores que presentaron diferencia significativa se usó la prueba de comparaciones planificadas, llamadas también *a priori*. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$.

Los indicadores Colesterol total, LDL y LDL/HDL no expresaron distribución normal aplicándoseles la prueba Kruskal - Wallis. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$ o $p < 0,01$.

3.7 Consideraciones éticas

Se respetó solo dos de las 3R (Reducción y Refinamiento) propuestas por Russell y Burch ⁽⁵⁷⁾. Además, se consideró la “Ley de protección y bienestar animal” (Ley N°30407) publicada el 08 de enero del 2016 en el diario oficial *E/ Peruano* ⁽⁵⁸⁾.

En el presente trabajo experimental no es viable el cumplimiento del “Reemplazo” porque se requieren indicadores bioquímicos de la sangre del animal. Se redujo lo más posible el número de roedores con la finalidad de poder mantener un diseño estadísticamente apropiado. Respecto al “Refinamiento”, se utilizó gases de éter para reducir el dolor del animal antes de su sacrificio ⁽⁵⁹⁾.

IV. RESULTADOS

4.1 Lípidos séricos

Posteriormente a la administración de GMS en el grupo II se observó un mayor nivel de colesterol total y de triglicéridos de forma significativa.

En los grupos que recibieron glutamato y ajo negro a diferentes dosis (grupo III y IV), se apreció una inhibición de los niveles de triglicéridos y colesterol total, siendo significativo en este último (Tabla 2)

Tabla 2. Concentraciones de lípidos séricos de ratas sometidas a procedimiento experimental

	Colesterol total \pm (mg/dL)	% de inhibición	Triglicéridos \dagger (mg/dL)	% de inhibición
Grupo I	62,66 \pm 1,96 ^a	--	29,33 \pm 1,63 ^b	--
Grupo II	78,00 \pm 6,38	--	45,33 \pm 7,50	--
Grupo III	69,50 \pm 4,27 ^a	10,90	33,83 \pm 10,79	25,37
Grupo IV	66,50 \pm 2,51 ^a	14,74	35,00 \pm 8,57	22,79

\dagger ANOVA $p < 0,05$ MEDIA \pm DE

\pm Kruskal – Wallis $p < 0,05$

(a) $p < 0,01$ contrastado con el grupo II

(b) $p < 0,05$ contrastado con el grupo II

4.2 Lipoproteínas séricas

En el grupo II (administración de glutamato monosódico) se observó un mayor nivel de HDL y LDL, siendo significativo en este último.

En los grupos que recibieron glutamato y ajo negro a diferentes dosis (grupo III y IV) se observó solo inhibición significativa en los niveles de LDL, respecto al HDL, este presentó inhibición significativa solo en el grupo III. (Tabla 3)

Tabla 3. Concentraciones de lipoproteínas séricas de ratas sometidas a procedimiento experimental.

	LDL‡ (mg/dL)	% de inhibición	HDL† (mg/dL)	% de incremento
Grupo I	8,83 ± 2,14 ^b	--	48,50 ± 2,43	--
Grupo II	18,33 ± 3,66	--	53,16 ± 2,04	--
Grupo III	13,66 ± 8,47 ^b	25,47	46,83 ± 4,44 ^b	-11,90
Grupo IV	10,33 ± 2,94 ^b	43,64	49,16 ± 3,54	-7,52

† ANOVA p<0,05 MEDIA ±DE

‡ Kruskal – Wallis p<0,05

(b) p<0,05 contrastado con el grupo II

4.3 Cocientes lipoproteicos

Se observó que la administración de glutamato monosódico produjo un mayor cociente de lipídicos y lipoproteínas, siendo significativo en el cociente LDL/HDL.

Del mismo modo, en los grupos que recibieron el tratamiento con ajo negro y glutamato monosódico, se observó una inhibición en los cocientes de Tg/HDL, CT/HDL y LDL/HDL; presentando significancia solo en este último. Se denota que el cociente CT/HDL presentó un menor nivel en el grupo IV, sin llegar a ser significativo. (Tabla 4)

Tabla 4. Cocientes lipoproteicos de ratas sometidas a procedimiento experimental.

	CT/HDL†	% de inhibición	LDL/HDL‡	% de inhibición	Tg/ HDL†	% de inhibición
Grupo I	1,29 ± 0,07	--	0,18 ± 0,05 ^b	--	0,60 ± 0,02	--
Grupo II	1,46 ± 0,09	--	0,34 ± 0,07	--	0,85 ± 0,16	--
Grupo III	1,49 ± 0,16	-2,05	0,30 ± 0,22 ^b	11,76	0,74 ± 0,28	12,94
Grupo IV	1,36 ± 0,12	6,85	0,21 ± 0,07 ^b	38,23	0,71 ± 0,18	16,47

† ANOVA p<0,05 MEDIA ±DE

‡ Kruskal – Wallis p<0,05

(b) p<0,05 contrastado con el grupo II

V. DISCUSIÓN

El nuestro medio, el consumo de fármacos dirigidos a reducir los niveles de lípidos en plasma es una parte importante en el tratamiento de la hiperlipidemia; sin embargo, se busca que estos presenten pocos efectos adversos. En este sentido, el empleo de alimentos funcionales en el tratamiento de la hiperlipidemia puede ser de utilidad en combinación con la terapéutica convencional ⁽⁶⁰⁾.

El glutamato monosódico (GMS) es la sal de sodio del ácido glutámico y se utiliza como potenciador del sabor en la industria alimentaria. La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos declaró que el GMS es seguro y el Comité Mixto FAO / OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios y el Comité Científico de Alimentos de la Comisión Europea establecieron que esta sustancia no ofrece ningún riesgo para la salud cuando se utiliza como un aditivo alimentario ⁽⁶¹⁾.

La fiabilidad del GMS como aditivo alimentario sigue siendo debatida, ya que estudios epidemiológicos informan la asociación del consumo de glutamato monosódico con trastornos metabólicos como la obesidad, hipertensión arterial, dislipidemias y síndrome metabólico ⁽⁶²⁻⁶⁵⁾. Existen protocolos donde el GMS es utilizado para inducir hiperlipidemia, como el método de Singh (2011); donde indica que a cantidades de 8 mg/g se presentan variaciones en el perfil lipídico ⁽⁵⁵⁾.

El grupo tratado exclusivamente con GMS (grupo II) presentó un mayor nivel de colesterol total, triglicéridos, LDL y HDL, este presentó un ligero aumento. Respecto a los cocientes lipoproteicos (CT/HDL, LDL/HDL y Tg/HDL) experimentaron también un mayor nivel en sus valores.

El aumento del colesterol total, triglicéridos y HDL también fue observado por Contini *et al.* (2017) tras un tratamiento con GMS por 12 semanas ⁽⁶⁶⁾. El GMS activa los genes implicados en el metabolismo de lípidos y el aclaramiento de lípidos exógenos a través de la activación de la vía de los ácidos biliares. El trabajo de Collison *et al.* (2010) indica además que el aumento de HDL esta asociado con la vía del transporte reverso del colesterol, conjuntamente con un

aumento en la expresión de colesterol 7 α - hidroxilasa (CYP7A1) y del receptor constitutivo de androstano (CAR) ⁽⁶⁷⁾.

El aumento en el colesterol plasmático total y LDL, puede estar relacionado al efecto del GSM que incrementa la actividad de la 3-hidroxil-3-metil-glutaril CoA reductasa (HMG CoA) conjuntamente con una posible reducción de los receptores de LDL para el colesterol ⁽⁶⁸⁾.

El incremento de triglicéridos y colesterol lo reportó Thomas *et al.* (2009) en ratas tratadas con GSM. Propusieron que un cambio en el metabolismo de la glucosa hacia la lipogénesis podría explicar estos significativos aumentos ⁽⁶⁹⁾. Sin embargo; en otra investigación, el aumento de triglicéridos también se ha visto acompañado de mayores niveles de glucosa, leptina e insulina séricas ⁽⁷⁰⁾.

En otros estudios; la administración de GSM causó daño en el núcleo arqueado hipotalámico e indujo hiperleptinemia en roedores neonatales, observando un marcado aumento de la grasa corporal ^(71; 72). Cabe señalar que los estudios sobre la hiperleptinemia se relacionan más con obesidad en niños y adolescentes, estableciendo una relación positiva con el aumento de triglicéridos y resistencia a la insulina ^(73; 74). Contini *et al.* (2017) observó además que el GSM indujo obesidad e hiperinsulinemia que fue acompañada con resistencia a la insulina y dislipidemia con aumento del contenido de triglicéridos hepáticos ⁽⁶⁶⁾.

Boutry *et al.* (2011) y Onaolapo *et al.* (2016) encontraron que la administración de GSM produce elevación en la concentración de glutamina en el torrente sanguíneo ⁽⁷⁵⁻⁷⁶⁾. La glutamina puede ingresar en el citosol para ser metabolizada por la glutaminasa hepática mitocondrial generando glutamato y amonio ⁽⁷⁷⁾. Este glutamato es catalizado por la glutamato deshidrogenasa originando α -cetoglutarato, NADH y amonio ⁽⁷⁸⁾.

El balance y dirección de la reacción de la glutamato deshidrogenasa depende de la proporción de NAD⁺ / NADH y la concentración de iones amonio ⁽⁷⁹⁾. Se conoce que el desequilibrio NAD⁺ / NADH afecta algunos procesos metabólicos, tanto en el ciclo de Krebs como en la β -oxidación ⁽⁸⁰⁾. Por ejemplo, concentración de α -cetoglutarato y NADH puede incrementar la generación de

citrato en la matriz mitocondrial por inhibición de la enzima isocitrato deshidrogenasa, aumentando la concentración de citrato ⁽⁷⁸⁾.

La síntesis de triglicéridos puede estar relacionada con la con la generación de citrato y su exportación al citosol, ya que este puede convertirse en oxalacetato y acetil-CoA por la ATP citrato liasa. La etapa restrictiva de la velocidad de la lipogénesis es catalizada por la acetil-CoA carboxilasa (ACC), una enzima indispensable para la síntesis de ácidos grasos ⁽⁸¹⁾.

Sin embargo, trabajos como el de Tchaou *et al.* (2013) con suplementación de GMS a 1,5 mg/g por 60 días, no encontró diferencias significativas en colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos respecto al grupo control. Además, el autor considera que existe una mayor sensibilidad a los efectos del GMS entre las variedades de ratas ⁽⁸²⁾. Sani *et al.* (2015) con un tratamiento de 8 mg/kg, observó luego de 14 días disminución significativa en los parámetros de colesterol total y LDL ⁽⁸³⁾. Nakamura *et al.* (2013) informó que el GMS no provocó resistencia a la insulina, dislipidemia o esteatosis hepática ⁽⁸⁴⁾. Maluly *et al.* (2013) tampoco observó alteraciones en el perfil lipídico luego de 13 semanas de tratamiento ⁽⁸⁵⁾.

Respecto al tratamiento; el pulverizado del *Allium sativum* sometido a pardeamiento a dosis de 50 mg/kg y 200 mg/kg manifestaron índices más bajos de colesterol total, triglicéridos, LDL. Respecto al nivel de HDL, este experimentó una disminución no significativa. Los cocientes lipoproteicos también presentaron una tendencia a la disminución.

Los resultados obtenidos están vinculados a los compuestos presentes en el ajo negro. Estos compuestos logran una mayor concentración en comparación con el ajo fresco al estar expuestos a condiciones de temperatura y humedad inducidas ⁽⁸⁶⁾. En el procesamiento térmico del ajo negro, según Zhang *et al.* (2013), la disminución de la aliina y de los sulfinatos origina la conversión en compuestos estables y solubles, principalmente la S-alilcisteína (SAC), S-alilmercaptocisteína (SAMC) y arginina ⁽³⁷⁾.

Ha W. *et al.* (2015) consideró que SAC y SAMC eran los responsables de los efectos hipolipidémicos y antioxidantes ⁽⁴⁶⁾. Asdaq (2015) comparó el efecto del

SAC frente a un extracto de ajo negro, reportando que no solo el compuesto azufrado era el que actuaba para combatir el estrés hiperlipidémico; adujo también la intervención de otros constituyentes responsables del potencial sinérgico antihiperlipidémico y antioxidante del ajo negro ⁽⁸⁷⁾.

Choi *et al.* (2014) demostró que la cantidad total de polifenoles y flavonoides se incrementa en el procesamiento térmico ⁽⁵⁰⁾, lo cual Nam *et al.* (2017) en su investigación, afirmaría que el ajo negro contiene varios compuestos activos como los azufrados y polifenólicos ⁽⁸⁸⁾.

Kim *et al.* (2013) en una comparación de los compuestos fenólicos y sus derivados flavonoides del ajo negro, sometido a diferentes etapas de procesamiento térmico, logrando encontrar polifenoles de naturaleza no flavonoide como derivados del ácido hidroxibenzoico (ácido gálico, ácido vanílico) y en mayor cantidad derivados del ácido hidroxicinámico (ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido coumárico, ácido felúrico), mientras que de naturaleza flavonoide destacan flavanoles (catequina, epicatequina, galato de epigallocatequina), flavonas (quercitrina) y flavonoles (mirecitina, resveratrol morin, quercitina) ⁽⁸⁹⁾.

Los polifenoles presentan efecto vasodilatador, regulan beneficiosamente el perfil lipídico y atenúan la oxidación de las LDL. Herranz-López *et al.* (2017) nos dice, además, que presentan efectos pleiotrópicos y que son capaces de contrarrestar la alteración en la expresión génica producto de una dieta inapropiada, modulando distintos blancos moleculares clave en la célula, al igual que por modificaciones epigenéticas ⁽⁹⁰⁻⁹¹⁾.

En un estudio se adicionó ácido gálico en dieta alta en grasas resultando una disminución del perfil lipídico, incluidos los niveles de insulina y leptina ⁽⁹²⁾. Taei y Diwan (2017) encontraron resultados similares, indicando que este polifenol inhibió la síntesis de colesterol hepático, aumentando la secreción de ácidos biliares fecales y la estimulación de receptores induciendo al catabolismo del LDL sérico ⁽⁹³⁾.

Chang *et al.* (2015) en un trabajo con ratas, evaluó la ingesta de ácido vanílico con una dieta alta en grasas, encontrando efecto protector contra la

hiperlipidemia, hiperinsulinemia e hiperglucemia. Logrando la disminución de ácidos grasos libres no esterificados en el hígado, mediante aumento en la expresión regulada de la señalización insulínica y proteína relacionada con el metabolismo de lípidos, incluyendo el receptor de insulina, la fosfatidilinositol-3 quinasa, el GLUT 2 y ACC fosforilada ⁽⁹⁴⁾.

Huang *et al.* (2014) encontró que el consumo de un isómero del ácido clorogénico suprimió los aumentos inducidos por una dieta alta en grasas en los niveles de lípidos en suero (incluido HDL) de una manera dependiente de la dosis. Este polifenol varió la expresión del ARNm de los factores de transcripción, aumentando el receptor activado por el proliferador de peroxisoma α (PPAR α) y disminuyendo el receptor del hígado X tipo α (LXR α). Además, modificó la expresión de genes diana involucrados en la captación de ácidos grasos hepáticos, β -oxidación, síntesis de ácidos grasos hepáticos y síntesis de colesterol ⁽⁹⁵⁾.

Bumrungpert *et al.* (2018) evaluó los efectos de la suplementación con ácido ferúlico en los perfiles de lípidos en personas con hiperlipidemia. Encontrando disminución del colesterol total, LDL, triglicéridos y aumento del HDL, logrando ello mediante inhibición de la HMG-Co A reductasa. Además, presentó efectos en la actividad antioxidante como disminución del LDL oxidado y menor expresión de genes inflamatorios ⁽⁹⁶⁾.

Se ha observado *in vitro* que la administración de ácido p-cumárico en las células del músculo esquelético, modula el metabolismo de la glucosa y de lípidos a través del incremento de la fosforilación por parte de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) y de igual manera con la ACC ⁽⁹⁷⁾. Shen *et al.* (2019) en un trabajo con ratones y dietas alta en grasas, reportó capacidad antioxidante, disminución en los niveles de colesterol total e índice de aterosclerosis, además de inhibición sobre la esteatosis hepática a través de la expresión del factor nuclear eritroide 2 (Nrf2) en hiperlipidemia inducida ⁽⁹⁸⁾.

Un estudio con epicatequina *in vitro*, demostró que previno la inflamación del tejido adiposo, regulando a la baja la expresión de genes asociados a la inflamación; además, los ratones con dieta alta en grasas, no generaron obesidad y la tolerancia a la insulina y glucosa se mantuvieron normales ⁽⁹⁹⁾.

Varela *et al.* (2017) en un tratamiento con epicatequina, encontró disminución de triglicéridos, colesterol total y LDL en plasma. La autora indica la acción de la AMPK, el cual regula el metabolismo de los lípidos a través de la fosforilación de la ACC ⁽¹⁰⁰⁾.

Samavat *et al.* (2016) suplementó a mujeres posmenopáusicas sanas con extracto de té verde con alta concentración de galato de epigallocatequina; encontrando disminución en las concentraciones de colesterol total y LDL ⁽¹⁰¹⁾. Más adelante; Pan *et al.* (2018), en un trabajo con ratones, halló que este polifenol reduce la expresión de TTC39B (gen codificador de proteínas) hepática, mientras logra un aumento de la expresión de LXR β y en mayor medida de la expresión proteica LXR α , todo ello asociado con regulación negativa de la expresión SREBP-1 ⁽¹⁰²⁾.

Choi *et al.* (2010) realizó un trabajo *in vitro*, en el que encontró que la quercitrina inhibió la captación de LDL oxidada, el aflujo de colesterol y la formación de células espumosas abundante en lípidos, mediante la inhibición de la inducción del receptor *scavenger* del macrófago y del factor de crecimiento endotelial vascular. Ello en relación con la inhibición de la señalización PPAR γ y proteína quinasa C (PKC) α ⁽¹⁰³⁾.

Xia *et al.* (2016) evaluó los efectos de la mirecitina en ratones con una dieta alta en grasas, encontrando mejora del perfil lipídico, reducción en la acumulación de triglicéridos hepáticos y mejora de la esteatosis hepática. Además, este estudio evaluó las vías biológicas hepáticas afectadas por la mirecitina destacando entre ellas la ruta de señalización PPAR γ y la vía Nrf2 ⁽¹⁰⁴⁾.

Estudios en ratas, sobre suplementación de resveratrol han informado que produce efecto en la transcripción de genes en el metabolismo de los lípidos. Ding *et al.* (2017) evidenció que el resveratrol regula positivamente el Sirtuin-1 (SIRT1) induciendo la autofagia y previniendo la esteatosis hepática, con disminución del colesterol total y triglicéridos tanto hepáticos como en suero. Yang *et al.* (2017) demostró que el resveratrol promovió la inhibición de la expresión de Cav-1 (caveolina-1), importante en el mantenimiento de la homeostasis de lípidos hepáticos ⁽¹⁰⁵⁻¹⁰⁶⁾.

Gu *et al.* (2017) realizó estudios *in vitro* con morin, encontrando que este polifenol es un antagonista dual de LXR α y LXR β . Los estudios *in vivo* en ratones alimentados con dieta alta en grasas, demostraron que redujo el avance de la esteatosis hepática y los niveles de triglicéridos hepáticos y séricos, además de inhibir el aumento del peso corporal, mejorar la tolerancia a la glucosa e insulina; sin embargo, el autor indica que el morin en macrófagos es también antagonista de LXR pero causa la inhibición de la expresión ABCA1 y ABCG1, promoviendo de esta forma el avance de la aterosclerosis ⁽¹⁰⁷⁾.

Zhang *et al.* (2016) suplementó con quercitina a ratas durante cinco semanas, encontrando expresión elevada de CYP7A1 y LXR α , lo que originó un metabolismo acelerado del colesterol a ácidos biliares, además, la quercitina promovió el flujo del colesterol hepático por regulación positiva en la expresión del gen ABCG1 ⁽¹⁰⁸⁾.

El estudio de Ha W. *et al.* (2015) observó una menor expresión de SREBP-1c en ratas tratadas con extracto de ajo negro. Causando la caída significativa de los niveles de ARNm de ACC, FAS y G-6PDH, lo que sugiere que la inhibición de la expresión de estos genes provoca una disminución de la síntesis de grasa en el hígado; causando una disminución en la concentración plasmática de triglicéridos. También consideró que la expresión de los niveles hepáticos de SREBP-1c activa las enzimas, HMG CoA reductasa y ACAT, que regulan la síntesis de colesterol y catalizan la esterificación del colesterol, respectivamente ⁽⁴⁶⁾.

Nam *et al.* (2017) evaluó los efectos del extracto de ajo negro envejecido sobre el metabolismo de los lípidos de los adipocitos 3T3-L1 maduros, encontrando disminución significativa en la expresión PPAR γ y perilipina en estos adipocitos, promoviendo de esta manera la lipólisis a través de la regulación negativa de la perilipina en adipocitos 3T3-L1 maduros ⁽⁸⁸⁾.

García-Villalón *et al.* (2016) en un estudio *in vitro*, encontró que un extracto de ajo negro enriquecido con SAC y polifenoles incrementó la expresión génica de eNOS e iNOS en el tejido miocárdico con aumento en la producción de óxido nítrico. Presentó efecto cardioprotector, lo que sugiere que puede ser beneficioso en la prevención de sujetos con factores de riesgo coronario ⁽¹⁰⁹⁾.

Liu *et al.* (2018) comparó las propiedades antioxidantes del ajo crudo y del ajo negro, encontrando una mayor capacidad en el ajo negro; el autor consideró que podría estar relacionado al mayor contenido de polifenoles de este último. En base a ello, exploró los efectos de un extracto de ajo negro en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica (ICC). La combinación de ajo negro con el tratamiento médico convencional mejoró la FEVI (fracción de eyección del ventrículo izquierdo) y la función cardíaca, además redujo el diagnóstico de insuficiencia cardíaca con mejora en la calidad de vida de los pacientes ⁽¹¹⁰⁾.

La presencia de actividad física e ingesta de ajo negro con mejora en el perfil lipídico también se ha visto en trabajos como el de Kim y Baek (2011); el cual sometió a ratas a ejercicio aeróbico por cuatro semanas más consumo de un extracto de ajo negro, encontrando en el grupo de ejercicio con ingesta de extracto de ajo negro, niveles significativamente más bajos en suero de colesterol total y triglicéridos e inhibición marcada de peroxidación lipídica con una mayor capacidad antioxidante ⁽¹¹¹⁾.

Ryu y Kang (2017), consideran que los componentes del ajo negro no se han analizado totalmente, ya que aún no hay suficientes investigaciones disponibles sobre ellos y su actuar en el organismo. Los contenidos y componentes varían con el tiempo de envejecimiento, humedad y temperatura. Además, la variabilidad de las cualidades y contenido fisicoquímico podría ser el efecto de diferentes variedades de ajo, así como causas agrícolas, genéticas y ecológicas. Estudios *in vitro* e *in vivo* han probado que el ajo negro ejerce efectos terapéuticos; sin embargo, se requieren más investigaciones para conocer con mayor precisión las funciones biológicas y sus composiciones. Comprender en general su mecanismo en el organismo, podría ayudar a evitar los efectos adversos de una administración a largo plazo y desarrollar propiedades que fomenten la salud ⁽¹¹²⁾.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- La ingesta de *Allium sativum* sometido a pardeamiento (ajo negro) redujo los niveles de triglicéridos y colesterol total siendo significativo en este último.
- La ingesta de *Allium sativum* sometido a pardeamiento (ajo negro) redujo los cocientes CT/HDL, Tg/HDL, LDL/HDL y el nivel de LDL siendo significativo en los dos últimos.
- La ingesta de *Allium sativum* sometido a pardeamiento (ajo negro) demostró efecto hipolipidémico en ratas con hiperlipidemia inducida.

Recomendaciones

- Promover la importancia del consumo del *Allium sativum* sometido a pardeamiento (ajo negro).
- Comparar procesamientos térmicos y de humedad del *Allium sativum* para la obtención de una mejor calidad nutricional del ajo negro.
- Evaluar la capacidad antioxidante del *Allium sativum* sometido a pardeamiento (ajo negro).

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades cardiovasculares, Ginebra: OMS, mayo del 2017. Centro de prensa. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
2. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics - 2017 Update. A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2017; 135 (10):146–603.
3. Aguirre M, Solís C. Acercamiento clínico a trastornos metabólicos de hipercolesterolemia. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador 2012.
4. Valdez W, Berto M, Oyola A, *et al.* Ministerio de Salud del Perú: Análisis de Situación de Salud del Perú. Lima; 2016.137 p.
5. Miranda J, Mendoza L, Contreras L, *et al.* Ministerio de Salud del Perú: Análisis de las Causas de Mortalidad en el Perú, 1986-2015. Lima; 2018. 221 p.
6. Segura L, Agusti R, Ruiz E. Factores de Riesgo de las Enfermedades Cardiovasculares en el Perú II. Estudio TORNASOL II comparado con TORNASOL I después de cinco años. *Rev Peruana de Cardiología*. 2013; 39(1):5-59.
7. Kreisberg R, Reusch J. Hiperlipidemia: Exceso de grasas en la sangre. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2006; 90 (3): 1250.
8. Carvajal C. Lipoproteínas: metabolismo y lipoproteínas aterogénicas. *Med. leg. Costa Rica*. 2014; 31(2): 88-94.
9. Soca P. Dislipidemias. *Rev Acimed*. 2009; 20(6):265-273.
10. Berliner J. Lipid oxidation products and atherosclerosis. *Vascular Pharmacology*. 2002; 38 (4): 187-191.
11. Carranza-Madrigal J. Triglicéridos y riesgo cardiovascular. *Med Int Méx*. 2017; 33 (4):511-514.
12. Cizek S, Bedri S, Talusan P, Silva N, Lee H, Stone J. Risk factors for atherosclerosis and the development of preatherosclerotic intimal hyperplasia. *Cardiovascular Pathology*. 2007; 16 (6): 344-350.

13. Cortés O. Hipercolesterolemia. Prevención y actualización del diagnóstico, tratamiento y seguimiento en Atención Primaria. En: AEPap ed. Curso de Actualización Pediatría 2005. Madrid: Exlibris Ediciones; 2005. p. 49-65.
14. Molinero A, Martínez D. Educación sanitaria en Hipercolesterolemia: Prevención de riesgos cardiovasculares desde la oficina de Farmacia. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid. Práctica Farmacéutica N° 2. 2006.
15. Alonso R, Mata N, Mata P. Control de las hiperlipidemias en la práctica clínica. Rev Esp Cardiol Supl. 2006; 6(7): 24-35.
16. Mata P. Introducción. En: Jimenez L, editor. Hiperlipidemias y riesgo cardiovascular. Rev Monocardio. 2004; 6(2):59-60.
17. Aranda J, García J, Nina E, *et al.* Efecto del aceite de *Plukenetia volubilis* L. (sacha inchi) sobre la hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia en pacientes con hiperlipidemia mixta del CAMEC – Iquitos, 2009. Lima, 2011.
18. Aranceta J, Serra L. Guía de alimentos funcionales [Internet]. Madrid: Sociedad Española de Nutrición Comunitaria; 2010.
19. Hasler CM, Brown AC. Position of The American Dietetic Association: Functional foods. J Am Diet Assoc. 2009; 109 (4): 735-826.
20. Lichtenstein A, Appel L, Brands M, *et al.* Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006: A Scientific Statement From the American Heart Association Nutrition Committee. Circulation. 2006; 114 (1): 82-96.
21. Ramos E, Romeo J, Wärnberg J, *et al.* ¿Más que alimentos? En: Barberá J, *et al.*, editores. Alimentos funcionales: Aproximación a una nueva alimentación. Madrid: Comunidad de Madrid; 2009. p. 30-45.
22. Corzo M, Corzo N, Villamiel M. Biological properties of onions and garlic. Trends Food Sci. Technol. 2007; 18 (12): 609-625.
23. Cruzado M. y Cedrón J. Nutraceuticos, alimentos funcionales y su producción. Revista de Química PUCP. 2012; 26 (1-2): 33 – 36.
24. Mansilla F. Situación actual, características y técnicas de cultivo del ajo. Vida Rural (España). 2002; (148): 22 – 26.

25. Abril H, Rodríguez R, Hernández A. Ajo: Consideraciones sobre sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. *Medicentro (Cuba)*. 2004; 8 (1): 165 – 167.
26. Barrera A. Evaluación de dos programas de fertilización a base de ácidos carboxílicos en dos variedades del cultivo de ajo (*Allium sativum*, Liliaceae) en Chiantla, Huehuetenango, Guatemala [Tesis]. Quetzaltenango (Gtm): Universidad Rafael Landívar; 2012. 78p.
27. Ministerio de Agricultura y Riego. Resumen Ejecutivo: Manuales – boletines: Ajo. Perú, 2011. Disponible en: http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/manuales-boletines/ajo/ajo_feb11.pdf
28. Ministerio de Agricultura y Riego. Líneas de cultivos emergentes: Ajo. Perú. 2011. Disponible en: <http://www.minagri.gob.pe/portal//download/pdf/sectoragrario/agricola/lineasdecultivosemergentes/AJO.pdf>
29. Pacheco V. Efecto de la densidad de siembra en el rendimiento de tres variedades de ajo (*Allium sativum* L.) Chontaca 3525 m.s.n.m - Ayacucho [Tesis]. Ayacucho (Perú): UNSCH; 2003.
30. Rahman, MS. Allicin and other functional active components in garlic: health benefits and bioavailability. *Int. J. Food Prop.* 2007; 10 (2): 245-268.
31. Borrelli F, Capasso R, Izzo AA. Garlic (*Allium sativum* L.): adverse effects and drug interactions in humans. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007; 51: 1386-1397.
32. Reinhart KM, Talati R, White CM, Coleman CI. The impact of garlic on lipid parameters: a systematic review and meta-analysis. *Nutr. Res. Rev.* 2009; 22: 39-48.
33. El-Khayat Z, Rasheed W, Ramzy T, Hussein J, Agaiby M, Morsy S, *et al.* Protective effect of garlic oil against liver injury in experimental animals. *J. Med. Plants Res.* 2010; 4 (22): 2359-2369.
34. Van Boekel M, Fogliano V, Pellegrini N, Stanton C, *et al.* A review on the beneficial aspects of food processing. *Molecular Nutrition and Food Research.* 2010; 54 (9):1215-1247.

35. Zhang X, Li N, Lu X, Liu P, Qiao X. Effects of temperature on the quality of black garlic. *J Sci Food Agric*. 2015; 96 (7): 2366–2372.
36. Montañó A, Casado FJ, de Castro A, Sánchez AH, Rejano L. Vitamin content and amino acid composition of pickled garlic processed with and without fermentation. *J Agric Food Chem*. 2004; **52**:7324–7330.
37. Zhang M, Lei N, Zhu T, Zhang Z. Thermal processing effects on the chemical constituent and antioxidant activity of S-alk(en)ylcysteine S-oxides (alliin) extract. *LWT-Food Sci Technol*. 2013; 51(1): 309–313.
38. Choi DJ, Lee SJ, Kang MJ, Cho SJ, Sung NJ, Shin JH. Physicochemical characteristics of black garlic (*Allium sativum* L.). *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr*. 2008; 37 (4): 465-471.
39. Xia EQ, Deng GF, Guo YJ, Li HB. Biological activities of polyphenols from grapes. *Int J Mol Sci*. 2010; 11:622-646.
40. Meriga B, Mopuri R, MuraliKrishna T. Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*. *Asia Pac J Trop Med*. 2012; 5 (5): 391-395.
41. Thomson M, Al-Amin Z, Al-Qattan K, Shaban L, Ali M. Anti-diabetic and hypolipidaemic properties of garlic (*Allium sativum*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Diabetes & Metabolism*. 2007; 15: 108-115.
42. Seo Y, Gwon O, Im J, Lee J, Kang M, Kim J. Effect of Garlic and Aged Black Garlic on Hyperglycemia and Dyslipidemia in Animal Model of Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Food Sci. Nutr*. 2009; 14 (1):1-7.
43. Lee HS, Yang ST, Ryu BH. Effects of Aged Black Garlic Extract on Lipid Improvement in Rats Fed with High Fat-Cholesterol Diet. *Journal of Life Science*. 2011; 21 (6): 884 – 892.
44. Kim I, Kim J, Hwang Y, Hwang K, Om A, Kim JH. The beneficial effects of aged black garlic extract on obesity and hyperlipidemia in rats fed a high-fat diet. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011; 5 (14): 3159-3168.
45. Chen Y, Hua Kao T, Yin Ch, Chan W, Lin Ch. Methanolic extract of black garlic ameliorates diet-induced obesity via regulating adipogenesis, adipokine biosynthesis, and lipolysis. *Journal of Functional Foods*. 2014; 9: 98–108.

46. Ha W, Ying T, Kim K. The effects of black garlic (*Allium sativum*) extracts on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. *Nutr Res Pract*. 2015; 9 (1):30-36.
47. Calderón Pérez, R. Evaluación del proceso de obtención de ajo negro a partir de distintas variedades de *Allium sativum* (ajo). Ecuador: Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2015.
48. Liu P, Lu X, Li N, *et al*. Effects and mechanism of free amino acids on browning in the processing of black garlic. *J Sci Food Agric*. 2019; 99 (10): 4670-4676.
49. Kang O. Physicochemical Characteristics of Black Garlic after Different Thermal Processing Steps. *Prev Nutr Food Sci*. 2016; 21(4): 348–354.
50. Choi I, Cha H, Lee Y. Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. *Molecules*. 2014; 19 (10): 16811-16823.
51. Hoshino T, Kashimoto N, Kasuga S. Effects of garlic preparations on the gastrointestinal mucosa. *J. Nutr*. 2001; 131: 1109S – 1113S.
52. Oboh G. Prevention of garlic-induced hemolytic anemia using some tropical green leafy vegetables. *J. Med. Food*. 2004; 7: 498–501.
53. Argimón J, Jiménez J. Métodos de investigación clínica y epidemiología, 4a ed. Barcelona, España: Elsevier; 2013.
54. Dorland Diccionario Enciclopédico Ilustrado de Medicina. 32ª ed. Madrid: Elsevier; 2011.
55. Singh K, Sharma J, Kaur A, Ahluwalia P. Alteration upon Oral Ingestion of Monosodium Glutamate in Various Lipid and Lipoprotein Fractions in Serum of Adult Male Rat. *Journal of Life Sci*. 2011; 3(1):17–21.
56. Wiener Lab Group. *Vademecum*. Rosario: Wiener Lab Group; 2000.
57. Rusel, W. M. S and R. L. Burch. 1959. The principles of Humane Experimental Technique. Methuen, London. UK.
58. Vega S, Watanabe R. Análisis de la Ley 30407 «Ley de Protección y Bienestar Animal» en el Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2016; 27(2), 388-396.
59. Mrad de Osorio, A. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad

- y un compromiso ético que nos compete a todos. *Revista Colombiana de Bioética* 2006; 1 (1): 163 – 183.
60. Llanes J. Alimentos hipolipemiantes que mejoran la salud cardiovascular. *Rev Cubana Cardiol Cir Cardiovasc.* 2017; 23(4): 1-33.
61. Maluly H, Ariseto-Bragotto A, Reyes F. Monosodium glutamate as a tool to reduce sodium in foodstuffs: Technological and safety aspects. *Food science & nutrition.* 2017; 5(6), 1039–1048.
62. He K, Zhao L, Daviglus ML, Dyer AR, Van Horn L, Garside D, *et al.* Association of monosodium glutamate intake with overweight in Chinese adults: the INTERMAP Study. *Obesity (Silver Spring).* 2008; 16(8):1875–1880.
63. He K, Du S, Xun P, Sharma S, Wang H, Zhai F, *et al.* Consumption of monosodium glutamate in relation to incidence of overweight in Chinese adults: China Health and Nutrition Survey (CHNS). *Am J Clin Nutr.* 2011; 93(6):1328–1336.
64. Shi Z, Yuan B, Taylor AW, Dai Y, Pan X, Gill TK, *et al.* Monosodium glutamate is related to a higher increase in blood pressure over 5 years: findings from the Jiangsu Nutrition Study of Chinese adults. *Journal of hypertension.* 2011; 29(5):846–53.
65. Insawang T, Selmi C, Cha'on U, Pethlert S, Yongvanit P, Areejitranusorn P, *et al.* Monosodium glutamate (MSG) intake is associated with the prevalence of metabolic syndrome in a rural Thai population. *Nutr Metab (Lond).* 2012; 9(1):50.
66. Contini M, Millen N, Benmelej A, *et al.* Evaluación del estado nutricional y metabolismo hepático en ratas macho expuestas crónicamente a la ingesta de glutamato monosódico. *FABICIB.* 2017; 21: 38-54.
67. Collison K, Maqbool Z, Inglis A, Makhoul N, Saleh S, Barkheet R, *et al.* Effect of dietary monosodium glutamate on HCFS-induced hepatic steatosis: expression profiles in the liver and visceral fat. *Rev. Obesity* 2010; 18(6):1122-1134.
68. Okediran B, Olurotimi A, Rahman S, Michael O, Olukunle J. Alterations in the lipid profile and liver enzymes of rats treated with monosodium glutamate. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences.* 2014; 12 (3): 42-46.

69. Thomas M, Sujatha K, George S. Protective effect of *Piper longum* Linn. On monosodium glutamate induced oxidative stress in Rats. Indian Journal exp. bio. 2009; 47 (3):186-192.
70. Diniz Y, Faine L, Galhardi C, Rodrigues H, Ebaid G, Burneiko R, *et al.* Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. Nutrition. 2005; 21 (6): 749-755.
71. Perello M, Gaillard RC, Chisari A, Spinedi E. Adrenal enucleation in MSG damaged hyperleptinemic male rats transiently restores adrenal sensitivity to leptin. Neuroendocrinol 2003; 78: 176-184.
72. Perello M, Castrogiovanni D, Giovambattista A. *et al.* Prolonged but not short negative energy condition restored corticoadrenal leptin sensitivity in the hypothalamic obese rat. Neuroendocrinology. 2009; 89(3): 276-287.
73. Perez O. Relación entre los niveles de leptina y parámetros metabólicos (glicemia y el perfil lipídico) en niños y adolescentes entre 5 y 17 años de edad, según estado nutricional, en la ciudad de Barranquilla. 2014-2015 [Tesis]. Barranquilla (Co): Universidad del Norte; 2017. 114 p.
74. Gonzaga C, Medeiros C, de Carvalho D, Alves J. Leptin and cardiometabolic risk factors in obese children and adolescents. J Paediatr Child Health. 2014; 50(9):707-712.
75. Boutry C, Bos C, Matsumoto H, Even P, Azzout-Marniche D, Tomé D, *et al.* Effects of monosodium glutamate supplementation on glutamine metabolism in adult rats. Frontiers of Bioscience. 2011; 1(3): 279- 290.
76. Onaolapo O, Onaolapo A, Akanmu M, Gbola, O. Evidence of alterations in brain structure and antioxidant status following 'low-dose' monosodium glutamate ingestion. Pathophysiology. 2016; 23(3):147-156.
77. Rodwell V. Catabolismo de proteínas y de nitrógeno de aminoácidos. En: De León J, editor. Harper Bioquímica Ilustrada. 29. EEUU: McGraw Hill; 2012. p. 271-280.
78. Fahien LA y MacDonald MJ (2011). The complex mechanism of glutamate dehydrogenase in secretion insulin. *Diabetes*. 2011; 60 (10): 2450-2454.

79. Bender D, Mayes P. El ciclo del ácido cítrico: el catabolismo de la acetil-CoA. En: De León J, editor. Harper Bioquímica Ilustrada. 29. EEUU: McGraw Hill; 2012. p. 163-168.
80. Pérez M, Castellano G. Hígado y alcohol. En: Montoro M, editor. Gastroenterología y hepatología: Problemas comunes en la práctica clínica. 2. España: Jarpyo; 2012. p. 799-814.
81. Pietrocola F, Galluzzi L, Bravo-San Pedro J, Madeo F, Kroemer G. Acetyl Coenzyme A: A Central Metabolite and Second Messenger. *Cell Metabolism*. 2015; 21(6): 805-821.
82. Tchaou M, Lamboni C, Eklu-Gadegbeku K, Abalokoka E, Aklikokou K. Effects of food flavour enhancer (Monosodium Glutamate and Maggi Poulet) supplementation on glucose tolerance in Sprague Dawley rat. *Int J Biol Chem Sci* 2013; 7(1):161-171.
83. Sani M, Bello B, Adam A, Abubakar H, Ahmad S, Muhammad M. The effects of oral monosodium glutamate consumption on lipid profile of experimental rats. *International Journal of Ethnomedicine and Pharmacognosy*. 2015; 2 (1): 6 – 12.
84. Nakamura H, Kamawata Y, Kuwahara T, Smriga M, Sakai R. Long-term ingestion of monosodium L-Glutamate did not induce obesity, dyslipidemia or insulin resistance: A two-generation study in mice. *J Nutr Sci Vitaminol*. 2013; 59: 129-135.
85. Maluly H, Areas M, Borelli P, Reyes F. Evaluation of Biochemical, Hematological and Histological Parameters in Non Diabetic and Diabetic Wistar Rats Fed with Monosodium Glutamate. *Food and Nutrition Sciences*. 2013; 4 (1): 66-76.
86. Sun Y, Wang W. Changes in nutritional and bio-functional compounds and antioxidant capacity during black garlic processing. *J. Food Sci Technol*. 2017; 55 (2): 479-488.
87. Asdaq S. Antioxidant and Hypolipidemic Potential of Aged Garlic Extract and It's Constituent, S-Allyl Cysteine, in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015; 1-7.
88. Nam H, Jung H, Kim Y, *et al*. Aged black garlic extract regulates lipid metabolism by inhibiting lipogenesis and promoting lipolysis in mature 3T3-L1 adipocytes. *Food Sci Biotechnol*. 2017; 27 (2):575-579.

89. Kim J, Kang O, Gweon O. Comparison of phenolic acids and flavonoids in black garlic at different thermal processing steps. *J. of functional foods*. 2013; 5 (1): 80-86.
90. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*. 2012; 27(1):76-89.
91. Herranz-López M, Olivares-Vicente M, Encinar J, *et al*. Multi-Targeted Molecular Effects of Hibiscus sabdariffa Polyphenols: An Opportunity for a Global Approach to Obesity. *Nutrients*. 2017; 9(8): 1-26.
92. Hsu CL, Yen GC. Effect of gallic acid on high fat diet-induced dyslipidaemia, hepatosteatosi s and oxidative stress in rats. *British Journal of Nutrition*. 2007; 98 (4): 727–735.
93. AL-Taei MF, AL-Diwan MA. The effect of gallic acid as protective agent on some biochemical parameters induced hypercholesterolemia in laboratory male rats. *Bas.J.Vet.Res*. 2017; 16 (1): 67-79.
94. Chang WC, Wu JS, Chen CW, *et al*. Protective Effect of Vanillic Acid against Hyperinsulinemia, Hyperglycemia and Hyperlipidemia via Alleviating Hepatic Insulin Resistance and Inflammation in High-Fat Diet (HFD)-Fed Rats. *Nutrients*. 2015; 7(12):9946-9959.
95. Huang K, Liang XC, Zhong YL, He WY, Wang Z. 5-Caffeoylquinic acid decreases diet-induced obesity in rats by modulating PPAR α and LXR α transcription. *J Sci Food Agric*. 2015; 95 (9): 1903–1910.
96. Bumrungpert A, Lilitchan S, Tuntipopipat S, Tirawanchai N, Komindr S. Ferulic Acid Supplementation Improves Lipid Profiles, Oxidative Stress, and Inflammatory Status in Hyperlipidemic Subjects: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Nutrients*. 2018; 10(6): 713.
97. Yoon SA, Kang SI, Shin HS, *et al*. *p*-Coumaric acid modulates glucose and lipid metabolism via AMP-activated protein kinase in L6 skeletal muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013; 432 (4): 553-557.
98. Shen Y, Song X, Li L, *et al*. Protective effects of *p*-coumaric acid against oxidant and hyperlipidemia-an in vitro and in vivo evaluation. *Biomed Pharmacother*. 2019; 111: 579-587.

99. Sano T, Nagayasu S, Suzuki S, Iwashita M, Yamashita A, Shinjo T, *et al.* Epicatechin downregulates adipose tissue CCL19 expression and thereby ameliorates diet-induced obesity and insulin resistance. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2017; 27(3):249-259.
100. Varela CE, Rodriguez A, Romero-Valdovinos M, Mendoza-Lorenzo P, Mansour C, Ceballos G, *et al.* Browning effects of (-)-epicatechin on adipocytes and white adipose tissue. *Eur J Pharmacol.* 2017; 811:48-59.
101. Samavat H, Newman AR, Wang R, Yuan JM, Wu AH, Kurzer MS. Effects of green tea catechin extract on serum lipids in postmenopausal women: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Am J Clin Nutr.* 2016; 104 (6):1671-1682.
102. Pan LL, Wu Y, Wang RQ, *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-Gallate Ameliorates Atherosclerosis and Modulates Hepatic Lipid Metabolic Gene Expression in Apolipoprotein E Knockout Mice: Involvement of TTC39B. *Front Pharmacol.* 2018; 9 (195): 1-10.
103. Choi JS, Bae JY, Kim DS, *et al.* Dietary Compound Quercitrin Dampens VEGF Induction and PPAR γ Activation in Oxidized LDL-Exposed Murine Macrophages: Association with Scavenger Receptor CD36. *J Agric Food Chem.* 2010; 58(2): 1333-1341.
104. Xia SF, Le GW, Wang P, *et al.* Regressive Effect of Myricetin on Hepatic Steatosis in Mice Fed a High-Fat Diet. *Nutrients.* 2016, 8(12): 799.
105. Ding S, Jiang J, Zhang G, *et al.* Resveratrol and caloric restriction prevent hepatic steatosis by regulating SIRT1-autophagy pathway and alleviating endoplasmic reticulum stress in high-fat diet-fed rats. *PLoS One.* 2017; 12(8): 1-16.
106. Yang H, Chen Q, Sun F, *et al.* Down-regulation of the klf5-c-Myc interaction due to klf5 phosphorylation mediates resveratrol repressing the caveolin-1 transcription through the PI3K/PKD1/Akt pathway. *PLoS One.* 2017; 12(12): 1-13.
107. Gu M, Zhang Y, Liu C, *et al.* Morin, a novel liver X receptor α/β dual antagonist, has potent therapeutic efficacy for nonalcoholic fatty

- liver diseases. *British journal of pharmacology*. 2017; 174 (18): 3032–3044.
108. Zhang M, Xie Z, Gao W, *et al*. Quercetin regulates hepatic cholesterol metabolism by promoting cholesterol-to-bile acid conversion and cholesterol efflux in rats. *Nutr Res*. 2016; 36(3):271-279.
109. García-Villalón A, Amor S, Monge L, Fernández N, Prodanov M, Muñoz M, *et al*. In vitro studies of an aged black garlic extract enriched in S-allylcysteine and polyphenols with cardioprotective effects. *J. of functional foods*. 2016; 27: 189-200.
110. Liu J, Zhang G, Cong X, Wen C. Black Garlic Improves Heart Function in Patients With Coronary Heart Disease by Improving Circulating Antioxidant Levels. *Frontiers in Physiology*. 2018; 9: 1-11.
111. Kim SH, Baek YH. Effects of Aerobic Exercise and Black Garlic Intake on Blood Lipids, Lipid Peroxidation and BAP in Rats. *Journal of Life Science*. 2011; 21 (7): 1025-1031.
112. Ryu JH, Kang D. Physicochemical Properties, Biological Activity, Health Benefits, and General Limitations of Aged Black Garlic: A Review. *Molecules*. 2017; 22(6) 1-14.

ANEXOS

ANEXO I

Pardeamiento del *Allium sativum* (ajo).



ANEXO II

Uso de nitrógeno líquido y liofilizado.

